

0004558508 - Drawing available

WPI ACC NO: 1988-309597/ 198844

Laboratory analysis unit contacting liq. and solid - with closed path for liq. from one compartment to another and back again

Patent Assignee: DIAGNOSTICS PASTEUR (DIAG-N)

Inventor: JONCKHEERE B; THILLAUD A M

Patent Family (1 patents, 1 countries)

Patent Application

Number	Kind	Date	Number	Kind	Date	Update
FR 2612297	A	19880916	FR 19873248	A	19870310	198844 B

Priority Applications (no., kind, date): FR 19873248 A 19870310

#### Patent Details

Number	Kind	Lan	Pg	Dwg	Filing Notes
FR 2612297	A	FR	36	23	

#### Alerting Abstract FR A

A laboratory analysis unit contacting solid and liquid reagents has two compartments each with an opening and a closure, and a system placing the compartments in communication allowing the liquid to follow a closed path from one compartment to the other and back again.

USE/ADVANTAGE - Used for the medical, food, or pharmaceutical industries, or for immunology. There is no risk of contamination.

#### Abstract of FR2612297

The invention relates to a laboratory device for an analysis requiring transient contact of a solid phase, containing or carrying at least one first reagent, with a liquid phase, containing at least one second reagent, consisting of two compartments, each having at least one opening on the outside fitted with a closure means, and comprising a means for connecting the said compartments, this means allowing the said liquid contained in one of the compartments to be passed in a closed system to the other compartment, and to be returned to its original compartment.

60-24  
⑯ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

⑪ N° de publication :  
(à utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

2 612 297

⑯ N° d'enregistrement national : 87 03248

⑯ Int Cl<sup>e</sup> : G 01 N 31/00, 33/48; C 12 M 1/18.

⑫

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

⑯ Date de dépôt : 10 mars 1987.

⑯ Demandeur(s) : DIAGNOSTICS PASTEUR, Société anonyme. — FR.

⑯ Priorité :

⑯ Inventeur(s) : Anne-Marie Thillaud ; Bernard Jonckheere.

⑯ Date de la mise à disposition du public de la demande : BOPI « Brevets » n° 37 du 16 septembre 1988.

⑯ Titulaire(s) :

⑯ Références à d'autres documents nationaux apparentés :

⑯ Mandataire(s) : Cabinet Beau de Loménie.

⑯ Dispositif de laboratoire pour analyse nécessitant la mise en contact transitoire d'une phase solide et d'une phase liquide.

⑯ L'invention concerne un dispositif de laboratoire pour une analyse, nécessitant la mise en contact transitoire d'une phase solide contenant ou portant au moins un premier réactif avec une phase liquide contenant au moins un second réactif, constitué de deux compartiments ayant chacun au moins une ouverture sur l'extérieur munie d'un moyen de fermeture et comportant un moyen pour la mise en communication desdits compartiments, ce moyen permettant en système fermé le passage dudit liquide contenu dans l'un des compartiments vers l'autre compartiment et son retour dans son compartiment d'origine.

FR 2 612 297 - A1

D

Vente des fascicules à l'IMPRIMERIE NATIONALE, 27, rue de la Convention — 75732 PARIS CEDEX 15

Dispositif pour la culture biphasique de micro-organismes.

L'invention concerne un dispositif de laboratoire constitué de deux compartiments ayant chacun au moins une ouverture sur l'extérieur munie d'un moyen de fermeture et comportant un moyen pour la mise en communication desdits compartiments, ce moyen permettant en système fermé le passage d'un liquide contenu dans l'un des compartiments vers l'autre compartiment et le retour dudit liquide dans son compartiment d'origine.

Le dispositif selon l'invention trouve son application pour diverses sortes d'analyses de laboratoire nécessitant, en cours d'opération, le transfert d'un liquide contenu par un récipient vers un autre récipient et le retour dudit liquide dans son récipient d'origine. Son domaine privilégié est celui des analyses microbiologiques, qu'il s'agisse d'analyses à des fins médicales ou d'analyses en vue de vérifier la qualité de produits industriels tels que les produits agro-alimentaires et les médicaments ou encore par exemple d'analyses en vue de contrôler la qualité des eaux. Le dispositif de l'invention peut également être utilisé avec intérêt lors de la réalisation d'essais à deux étapes comportant une étape de développement puis une étape de révélation, tels que les essais visant à détecter un analyte par une réaction spécifique du type récepteur-ligand dans le cadre d'une réaction immuno-logique entre un antigène et un anticorps ou d'une réaction d'hybridation entre un oligomère d'acide nucléique et un oligomère complémentaire d'acide nucléique marqué.

La demanderesse a conçu le dispositif selon l'invention en cherchant à pallier aux inconvénients rencontrés lorsque se pose le problème du transfert en système fermé d'un réactif contenu dans un premier récipient vers un second récipient. Ces inconvénients peuvent être aisément illustrés par la présentation des moyens connus utilisés pour la détection d'un micro-organisme contaminant à un faible taux un produit.

On sait que la détection de la présence d'un micro-organisme, tel qu'une bactérie ou un champignon, présent dans un échantillon, lorsqu'il ne s'agit que d'une contamination à faible taux, implique

que l'on ensemence à partir de l'échantillon à tester au moins un milieu nutritif liquide et plusieurs milieux nutritifs solides. On procède généralement tout d'abord à l'introduction de l'échantillon dans le milieu liquide puis après incubation on porte à la 5 surface des milieux solides une partie aliquote du milieu liquide ainsi ensemencé. Les milieux sont alors mis en incubation de façon à permettre la culture du micro-organisme dont la présence est suspectée. L'apparition d'un trouble dans le milieu liquide et/ou de colonies sur un milieu solide signe la présence du micro-organisme recherché. Il est alors possible, notamment à partir 10 des colonies, d'identifier le micro-organisme et d'effectuer différents tests complémentaires tels que, par exemple, un antibiogramme. Ce mode de culture effectué à l'aide de milieux liquide et solides est souvent qualifié de mode de culture biphasique.

15 Un premier mode de réalisation d'une culture biphasique repose sur l'utilisation séparée d'un récipient contenant un milieu liquide et de plusieurs récipients contenant un milieu solide. Le récipient contenant le milieu liquide est un flacon ou un tube fermé par un bouchon pouvant être perforé par exemple par une 20 aiguille du type de celles dont sont munis les dispositifs médicaux de prélèvement. Le milieu liquide est surmonté d'une atmosphère ayant une composition gazeuse appropriée à la culture du micro-organisme dont la présence est suspectée. Les récipients contenant un milieu solide sont par exemple des boîtes de Pétri. Il est 25 possible de limiter le nombre de boîtes de Pétri utilisées en choisissant des boîtes comportant des cloisons délimitant des compartiments dans chacun desquels peut être coulé un milieu nutritif solide. L'échantillon à tester est introduit, directement dans le récipient contenant le milieu liquide, à l'aide d'un 30 dispositif de prélèvement. Il faut ensuite ouvrir le flacon, y introduire une pipette de prélèvement, aspirer le milieu ensemencé et transporter la pipette jusqu'à la surface des milieux solides après avoir soulevé le couvercle des boîtes de Pétri.

35 Il apparaît d'une manière évidente que l'utilisation de tels récipients comporte deux inconvénients majeurs. Non seulement elle exige un grand nombre de manipulations qui peuvent être la

source d'erreurs mais encore l'ensemencement des milieux solides, effectué en système ouvert sous la seule protection d'une flamme ou d'un flux d'air laminaire stérile, peut être à l'origine d'une surcontamination des prélèvements du milieu liquide ensemencé 5 venant au contact de l'air ambiant lui-même chargé de germes.

Un second mode de réalisation d'une culture biphasique se fonde sur l'utilisation de récipients renfermant à la fois un milieu liquide, un milieu solide coulé sur une surface plane et une atmosphère ayant une composition gazeuse appropriée. Un 10 exemple de pareils récipients est donné par les flacons du type Castaneda commercialisés par la Société Diagnostics Pasteur. Ces récipients également dotés d'un bouchon perforable permettent de travailler en système fermé. Cependant, l'utilisation de tels récipients présente elle aussi certains inconvénients :

15 - il est impossible de couler dans un récipient donné plus d'un milieu solide ; cela implique que l'on utilise toute une série de récipients, chacun contenant un milieu solide donné. Or il est indispensable d'utiliser plusieurs milieux solides car il n'existe pas en effet de milieu solide universel permettant avec de bonnes 20 chances de succès de détecter la présence d'un micro-organisme donné ; c'est ainsi, en particulier, qu'un essai pour lequel on n'utilisera qu'un seul milieu contenant un facteur de croissance nécessaire au germe exigeant A, mais inhibiteur du germe exigeant B, ne permettrait pas de mettre en évidence le germe B,

25 - le milieu solide restant d'une manière permanente au moins en l'une de ses parties au contact du milieu liquide, il arrive qu'il se décolle et se désagrège notamment lors du transport dans les circuits commerciaux,

30 - il est indispensable que les deux milieux liquide et solide soient compatibles entre eux au cas où des constituants du milieu solide se dissoudraient dans le milieu liquide,

- les récipients actuellement disponibles sur le marché comportent un col relativement étroit rendant peu accessibles certains points du milieu solide pour le prélèvement d'une colonie,

- la qualité optique du verre généralement utilisé pour la fabrication des récipients peut ne pas permettre de déceler par une observation visuelle la présence de colonies de petite taille.

Enfin, un troisième mode de réalisation d'une culture biphasique peut se fonder sur l'utilisation d'un dispositif du type de celui commercialisé par la Société Roche sous l'appellation Système BCB Roche<sup>®</sup>. Ce dispositif est constitué de deux récipients indépendants. L'un (ci-après appelé récipient 1) est un flacon de forme classique muni d'un col et dont l'unique ouverture est obturée au moyen d'un bouchon perforable protégé par une capsule à vis. Il contient un milieu nutritif liquide. L'autre (ci-après appelé récipient 2) est un cylindre creux muni à l'une de ses extrémités d'une capsule portant un support de milieux nutritifs solides et à l'autre de ses extrémités un bouchon vissé. La mise en oeuvre du dispositif implique les étapes successives suivantes :

- 5 A - introduction de l'échantillon dans le récipient 1 par perforation de son bouchon,
- 10 B - enlèvement du bouchon du récipient 1,
- 15 C - enlèvement du bouchon du récipient 2 par dévissage,
- 20 D - vissage du récipient 2 sur le récipient 1,
- 25 E - inondation des milieux solides par le milieu liquide ensemencé au moyen d'un retournement du dispositif.

Il est clair que cette mise en oeuvre présente deux inconvénients importants : les opérations B, C et D étant en effet exécutées en système ouvert, d'une part les milieux nutritifs, en dépit de la protection qu'est susceptible de conférer une flamme ou un flux d'air laminaire stérile, sont donc exposés au risque d'une surcontamination qui inévitablement compromettrait l'analyse en cours et d'autre part il est impossible de maintenir une atmosphère 30 ayant une composition gazeuse appropriée.

La demanderesse a précisément conçu un dispositif qui permet de pallier aux nombreux inconvénients inhérents aux moyens de l'art antérieur en assurant en toute sécurité, parce qu'il est réalisé en système fermé, le transfert d'un liquide d'un premier récipient 35 vers un second récipient.

L'invention concerne un dispositif de laboratoire pour une analyse, nécessitant la mise en contact transitoire d'une phase solide contenant ou portant au moins un premier réactif avec une phase liquide contenant au moins un second réactif, constitué de deux compartiments ayant chacun au moins une ouverture sur l'extérieur munie d'un moyen de fermeture et comportant un moyen pour la mise en communication desdits compartiments, ce moyen permettant en système fermé le passage dudit liquide contenu dans l'un des compartiments vers l'autre compartiment et son retour dans son compartiment d'origine.

Le dispositif selon l'invention est essentiellement constitué de deux compartiments et comporte un moyen permettant leur mise en communication.

Chacun des compartiments comporte au moins une ouverture sur l'extérieur permettant l'introduction de l'échantillon soumis à l'analyse ou l'extraction d'un dispositif particulier nécessité par l'analyse et préalablement disposé en son intérieur.

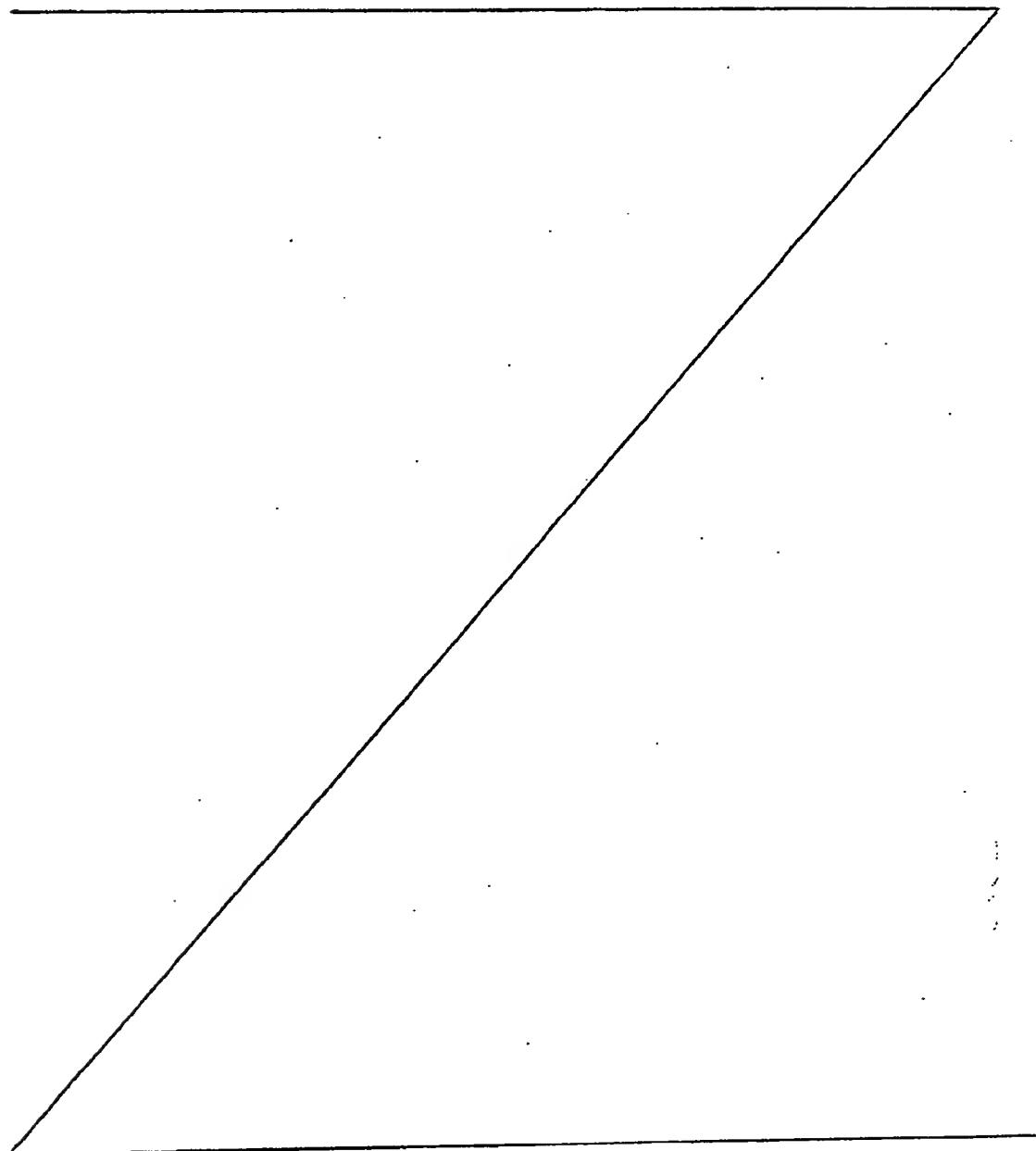
Les compartiments sont réalisés de préférence dans une matière plastique transparente telle que le polystyrène cristal ou le polyéthylène téréphthalate ci-après également désigné par les initiales PET. Leur fabrication fait appel aux techniques connues de l'homme du métier telles que notamment le moulage par injection.

Les deux compartiments sont solidaires l'un de l'autre. Selon un mode de réalisation, ils comportent une cloison commune. Une variante préférée est alors constituée par un dispositif dont les deux compartiments sont coaxiaux et s'emboîtent l'un dans l'autre. Selon un autre mode de réalisation, les deux compartiments n'ont pas de cloison commune mais sont rendus solidaires l'un de l'autre, au moyen par exemple d'au moins un plan d'attache.

Selon un autre mode de réalisation les deux compartiments n'ont pas de cloison commune mais sont rendus solidaires l'un de l'autre, au moyen d'une bague d'assemblage, de telle façon que s'établisse un contact étroit entre une cloison de l'un des compartiments et une cloison de l'autre, tout en permettant d'imprimer un mouvement de rotation à l'un des compartiments alors que l'autre est maintenu immobilisé.

Le moyen pour la mise en communication des compartiments peut revêtir diverses formes. Il peut s'agir d'une pièce mobile dont le déplacement libère une ouverture préexistante dans une cloison commune aux deux compartiments. Cette pièce peut être selon une 5 variante un volet obturateur. Selon une autre variante elle peut être une pièce positionnée dans ladite ouverture. Il peut également s'agir d'une pièce obstruant un canal reliant les deux compartiments. Il peut encore s'agir d'une pièce mobile ayant une extrémité acérée et dont le déplacement crée une solution de continuité dans

---



une cloison commune aux deux compartiments. Selon un autre mode de réalisation, le moyen pour la mise en communication est constitué, dans un dispositif dont les deux compartiments peuvent être mis l'un par rapport à l'autre en restant en contact l'un avec l'autre par l'intermédiaire chacun de l'une de leurs cloisons, par les deux cloisons concernées comportant chacune au moins une ouverture, l'ouverture de l'une et l'ouverture de l'autre pouvant par le mouvement de l'un des compartiments se superposer.

Le dispositif selon l'invention peut être aménagé de manière spécifique pour permettre la détection de la présence d'un micro-organisme contaminant un échantillon du produit soumis à l'analyse en pratiquant une culture de type biphasique.

L'invention concerne précisément selon un autre aspect un dispositif de laboratoire constitué de deux compartiments ayant chacun au moins une ouverture sur l'extérieur obturée par un moyen de fermeture, comportant un moyen pour la mise en communication desdits compartiments et muni en outre de moyens pour la détection de la présence d'un micro-organisme par culture biphasique.

Le dispositif selon l'invention pour la détection de la présence d'un micro-organisme par culture biphasique est réalisé de manière que l'un des compartiments (compartiment désigné ci-après sous le chiffre 1) reçoive le milieu liquide et l'autre compartiment reçoive (compartiment désigné ci-après sous le chiffre 2) plusieurs milieux solides. Les deux compartiments ou au moins le compartiment 1 contiennent une atmosphère ayant une composition gazeuse appropriée à la culture du micro-organisme dont la présence est suspectée. Les deux compartiments peuvent être de forme variée. D'une manière préférée, ils sont cylindriques ou parallélépipédiques. Selon une variante, l'encombrement spatial du compartiment 2 est celui délimité entre eux par deux récipients emboîtés l'un dans l'autre, le plus petit des récipients constituant le compartiment 1.

Le compartiment 1 comporte une ouverture obturée de manière étanche par un bouchon au travers duquel, par perforation, se fait, en système fermé, l'introduction de l'échantillon. Une capsule à vis ou à clip recouvre le bouchon.

Le bouchon est réalisé de façon connue dans une matière souple, déformable, neutre chimiquement et pouvant permettre sa perforation, au moyen par exemple d'une aiguille tout en assurant le maintien de l'étanchéité après le retrait du dispositif de perforation. La matière utilisée peut être à base de caoutchouc naturel ou de caoutchouc synthétique. La capsule peut être réalisée dans une matière plastique telle que du polyéthylène à haute densité ou dans un métal.

Le compartiment 2 comporte une ouverture sur laquelle est fixée, de préférence par vissage, une capsule. Il contient un support pouvant recevoir plusieurs milieux solides. Ce support est de préférence solidaire de la capsule ; il est alors fixé sur la face intérieure de celle-ci. Cette capsule est réalisée dans une matière plastique de préférence semi-souple et colorée telle que du polyéthylène à haute densité. Un modèle en est donné par la capsule utilisée pour le produit commercialisé sous l'appellation DGU par la Société Diagnostics Pasteur.

Le support de milieux solides est de préférence constitué par une lame réalisée dans une matière plastique telle que le polypropylène. Avantageusement, il est de couleur blanche. Chacune de ses faces peut comporter des cloisons verticales s'entrecroisant ; ces cloisons permettent de délimiter des zones susceptibles éventuellement de recevoir chacune un milieu de culture particulier. Un modèle de support est donné par celui utilisé dans le produit DGU cité ci-dessus.

L'ensemble du dispositif pour la détection de la présence d'un micro-organisme par culture biphasique selon l'invention doit préalablement à son emploi être stérilisé (par exemple en le soumettant à une irradiation par rayons gamma).

La mise en oeuvre du dispositif selon l'invention implique la succession des opérations suivantes :

- l'échantillon à tester sous forme liquide ou sous forme d'une suspension est introduit en système formé dans le compartiment 1,

- on procède éventuellement à une incubation,
- on met en communication les deux compartiments de manière à inonder la surface des milieux solides à l'aide du milieu liquide,
- 5 - on fait regagner, en positionnant de manière adéquate le dispositif, le milieu liquide dans le compartiment 1,
- on procède à une incubation,

les trois dernières opérations pouvant être répétées jusqu'à l'apparition d'un développement microbien.

10 Il est bien entendu possible d'examiner tout au long de ces opérations le développement éventuel du ou des micro-organismes que contenait l'échantillon à tester. Si l'on a repéré une ou plusieurs colonies à partir desquelles on souhaite poursuivre l'analyse, il suffit pour y accéder facilement d'ôter l'ensemble formé par la capsule du compartiment 2 et le support de milieux solides.

15 D'autres caractéristiques et avantages de l'invention ressortiront mieux de la description qui va suivre faite en référence aux dessins annexés pour lesquels :

20 - Les figures 1 à 4 représentent un premier dispositif selon l'invention par deux vues en coupe selon le plan de symétrie du dispositif (figures 1 et 4), par une vue de profil (figure 2), par une vue de dessus montrant le volet obturateur en position ouverte et en position fermée (figure 3).

25 - Les figures 5 à 8 représentent un deuxième dispositif selon l'invention par une vue d'ensemble extérieure (figure 5), par trois vues en coupe selon le plan de symétrie du dispositif (figures 6A, 6B et 8) et par deux vues en coupe selon un plan horizontal contenant l'axe AA' matérialisé sur les figures 6A et 6B (figures 7A et 7B).

30 - Les figures 9 à 12 représentent un troisième dispositif selon l'invention par une vue d'ensemble extérieure (figure 9), par trois vues en coupe selon le plan de symétrie du dispositif (figures 10A, 10B et 12) et par deux vues en coupe selon un plan horizontal contenant l'axe AA' matérialisé sur les figures 10A et 10B (figures 11A et 11B).

35 - Les figures 13 à 17 représentent un quatrième dispositif selon l'invention par une vue d'ensemble extérieure (figure

13), par une vue en coupe selon le plan vertical contenant les axes AA' et BB' matérialisés sur la figure 13 (figure 14), par une vue en coupe de tous les éléments constitutifs du dispositif selon le plan vertical contenant les axes AA' et BB' (figure 17), par une 5 vue en coupe selon le plan horizontal contenant l'axe BB' (figure 15) et par une vue en coupe dans la plus petite longueur du compartiment 1 selon leur plan vertical contenant l'axe AA' (figure 16).

- Les figures 18 à 20 représentent un cinquième dispositif selon l'invention par une vue d'ensemble extérieure (figure 18), 10 une vue en coupe selon le plan de symétrie du dispositif (figure 19) et par une vue en coupe selon un plan horizontal contenant l'axe AA' matérialisé sur la figure 19 (figure 20).

- Les figures 21 à 23 représentent un sixième dispositif selon l'invention par une vue en coupe verticale selon le plan 15 de symétrie du dispositif (figure 21), par une vue en coupe selon le plan horizontal contenant l'axe AA' matérialisé sur la figure 21 (figure 22) et par six vues en coupe illustrant la mise en oeuvre 21 du dispositif (figures 23A, 23B, 23C, 23D, 23E et 23F).

Parmi différentes variantes du dispositif selon l'invention 20 sont présentés ci-après six modèles qui réunissent les caractères constitutifs de tous les dispositifs selon l'invention et qui de plus sont spécialement adaptés à la détection d'un micro-organisme par culture biphasique.

Un premier dispositif, également appelé ci-après modèle 1, 25 est constitué de deux compartiments ayant une cloison commune et comporte un volet obturateur mobile (cf. figures 1 à 4).

Ce dispositif se caractérise principalement par ses deux compartiments ayant une cloison commune 8 qui présente une ouverture 10a dans sa partie supérieure. L'étanchéité entre les deux compartiments est assurée grâce au volet obturateur 8a dont est muni le support de milieux solides 6 sur l'un de ses côtés. 30

La mise en communication est réalisée en soumettant la capsule à vis 3 du compartiment 2 à une rotation horizontale partielle ; cette rotation provoque le déplacement du volet obturateur 8a initialement placé contre l'ouverture 10a. 35

Les deux compartiments et la cloison 8 sont issus d'une même opération de moulage. Sur la pièce ainsi obtenue a été rapporté un flasque, moulé par injection, et soudé par ultra-sons qui comporte deux cols d'ouverture munis l'un, pour le côté correspondant au 5 compartiment 1, d'un filetage extérieur à pas serré et l'autre, pour le côté correspondant au compartiment 2, d'un filetage extérieur à pas rapide.

L'utilisation de ce dispositif comporte les points particuliers suivants :

10 - après mise en communication des deux compartiments comme indiqué ci-dessus, on incline le dispositif de manière à permettre le passage du milieu liquide au travers de l'ouverture 10a et de façon qu'il vienne inonder les milieux solides fixés sur le support 6,

15 - le retour du milieu liquide dans le compartiment 1 est obtenu également en inclinant de manière appropriée le dispositif ou en le faisant reposer horizontalement sur le flanc 11 comme indiqué sur la figure 4,

20 - pour l'incubation du dispositif ainsi ensemencé dans ses deux compartiments, on maintient le dispositif, de préférence en position verticale, le volet obturateur étant de préférence en position fermée.

25 Un deuxième dispositif, également ci-après appelé modèle 2, est constitué de deux compartiments de forme cylindrique placés bout à bout (cf. figures 5 à 8).

30 Les deux compartiments sont maintenus en place par une bague d'assemblage 12. Chaque compartiment possède à l'une de ses extrémités une cloison 8b. Les cloisons 8b sont montées de telle sorte qu'elles puissent s'emboîter l'une dans l'autre et rester au contact l'une de l'autre lorsque l'on fait pivoter les deux 35 compartiments l'un par rapport à l'autre autour de l'axe de symétrie de l'ensemble du dispositif. Ces cloisons comportent chacune deux ouvertures (10a pour l'une et 10b pour l'autre). Par un mouvement de rotation d'un compartiment sur l'autre compartiment, il est possible de mettre en concordance les ouvertures 10a et 10b.

On met ainsi en communication les deux compartiments (cf. figures 6A et 7A). Pour rétablir l'étanchéité d'un compartiment par rapport à l'autre, il suffit d'imprimer un autre mouvement de rotation de façon que les ouvertures 8a et 8b cessent d'être 5 face à face (cf. figures 6B et 7B).

L'utilisation du dispositif comporte les points particuliers suivants :

- il faut veiller avant de procéder à l'introduction de l'échantillon dans le milieu liquide à ce que les deux 10 compartiments ne soient pas en communication,
- les deux compartiments ayant été mis en communication afin de faire passer le milieu liquide sur le support de milieux solides, on met le dispositif en position horizontale (cf. figure 8)
- le retour du milieu liquide dans le compartiment 1 s'obtient en mettant par exemple le dispositif en position 15 verticale, le compartiment 1 étant surmonté du compartiment 2.

Un troisième dispositif, également ci-après appelé modèle 3, reprend la plupart des caractéristiques du modèle 2 mais en diffère 20 par la forme des cloisons au niveau desquelles les compartiments peuvent entrer en communication (cf. figures 9 à 12). Les cloisons sont en effet deux disques plats portant l'un, deux ouvertures 10a et l'autre, deux ouvertures 10b.

Un quatrième dispositif, également ci-après appelé modèle 4, 25 est constitué de deux compartiments ayant une cloison commune. Cette cloison peut être déchirée par l'extrémité coupante du support de milieux solides fixé à la capsule du compartiment 2 (cf. figures 13 à 17).

La cloison étanche 8c séparant les deux compartiments 30 repose sur un joint circulaire 7.

Le compartiment 2 comporte une capsule à vis 3 montée sur une bague d'arrêt 5 brisable et arrachable. La capsule porte le support de milieux solides. L'extrémité inférieure de ce support a l'aspect d'une lame au bord tranchant. Après cassage et arrachage 35 de la bague d'arrêt, le fait de visser à fond la capsule permet à

l'extrémité inférieure 6a du support, venant au contact de la cloison 8c, de déchirer cette cloison.

Le compartiment 1 a été obtenu par moulage par injection de PET. Ce mode de fabrication a permis l'obtention d'une seule 5 pièce correspondant au compartiment 2 avec son fond. La cloison 8 est en chlorure de polyvinyle ; elle a été mise en place lors du montage du compartiment 2 sur le compartiment 1, l'étanchéité de ce montage étant assurée par la mise en place d'un joint en caoutchouc 7. La bague d'arrêt est en polypropylène ; elle a été 10 moulée par injection. Elle est de forme cylindrique et présente dans son profil deux points affaiblis par une diminution d'épaisseur et comporte au niveau de ces points une entaille faisant office de point d'amorçage de rupture.

15 L'utilisation du dispositif comporte les points particuliers suivants :

- la mise en communication des deux compartiments se fait comme indiqué ci-dessus par cassage puis élimination de la bague d'arrêt et vissage à fond de la capsule 3,
- la mise en contact du milieu liquide avec le support 20 de milieux solides se fait par inclinaison du dispositif,
- le retour du milieu liquide vers le compartiment 1 est obtenu en replaçant le dispositif dans sa position verticale initiale.

25 Un cinquième dispositif, également ci-après appelé modèle 5, est constitué de deux compartiments séparés reliés l'un à l'autre d'une manière fixe par deux plans d'attache verticaux (cf. figures 18 à 20). Les compartiments peuvent communiquer entre eux par l'intermédiaire d'un canal comportant lui-même deux parties de diamètres inégaux. Sa partie 8d qui part de la base du compartiment 1 est obstruée par un cylindre plein mobile ; sa partie 18 30 qui part de la base du compartiment 2 a le diamètre le plus grand.

Le compartiment 1 est doté en sa partie inférieure d'un plancher incliné 14 destiné à faciliter le transfert du milieu liquide vers la partie 8d du canal.

Le compartiment 1 comporte également en sa partie interne 5 supérieure un piston en caoutchouc 9 étanche. Ce piston joue le rôle du bouchon dont sont équipés pour leur compartiment 1 les modèles 1, 2, 3 et 4 : il est précisément perforable de manière à permettre l'introduction de l'échantillon dans le milieu liquide en système fermé. Les déplacements verticaux de bas en haut ou de 10 haut en bas de ce piston sont assurés à l'aide d'une tige 15 dont l'embout peut prendre place au niveau d'une cavité 9a prévue à cet effet à la partie supérieure du piston.

Une pression exercée sur le piston du haut vers le bas par 15 l'intermédiaire de la tige a pour effet de repousser le milieu liquide qui par réaction chasse le cylindre 17 dans la partie 18 du canal : cette opération met en communication les deux compartiments. Sous l'effet de la pression exercée, le milieu liquide est poussé au travers du canal vers le compartiment 2. Le milieu liquide pénétrant dans le compartiment 2 vient baigner le support 20 de milieux solides sans qu'il soit nécessaire de déplacer le dispositif. Afin de limiter la course du piston, le compartiment 2 a été proportionné de telle manière que son volume, une fois déduit le volume occupé par le support de milieux solides, soit inférieur au volume de milieu liquide initialement introduit 25 dans le compartiment 1. Le retrait de la tige permet la remontée du piston jusqu'à sa position initiale. Cette remontée a pour corollaire le rapatriement du milieu liquide du compartiment 1 vers le compartiment 2.

Les deux compartiments démunis de leur plancher et les 30 plans verticaux 13 les réunissant ont été moulés par injection en une seule pièce. Cette pièce comporte également la partie supérieure demi-cylindrique du canal au travers duquel se fait la mise en communication des deux compartiments. Le plancher est moulé par injection séparément. Il comporte la partie inférieure demi-cylindrique du canal. On l'a soudé aux ultra-sons sur les 35 compartiments après avoir mis en place au préalable le cylindre 17 dans la partie 8d du canal.

L'utilisation du dispositif comporte les points particuliers suivants :

- la mise en communication des deux compartiments et le retour du milieu liquide dans le compartiment 1 se font comme indiqué plus haut en actionnant la tige,
- l'incubation du dispositif ainsi ensemencé dans ses deux compartiments peut se faire en le retournant afin qu'il repose sur ses capsules 3 et 4.

Un sixième dispositif, également ci-après appelé modèle 6, se caractérise en particulier par le fait que les deux compartiments sont coaxiaux et que le compartiment 1 s'emboîte dans le compartiment 2.

Le compartiment 2 contient deux supports de milieux solides. Ces supports sont fixés sur la face externe de la paroi du compartiment 1.

L'étanchéité entre les deux compartiments est assurée au moyen d'une petite pièce 16 en forme de flèche obstruant une fine fente 8e pratiquée dans le fond du compartiment 1 (cf. figure 21).

La capsule 3 du compartiment 2 a une section annulaire et comporte une rainure circulaire sur son rebord interne sur laquelle vient se bloquer la capsule 4 du compartiment 1.

La capsule 3 se visse simultanément sur la face externe de la paroi extérieure du compartiment 2 et sur la face externe de la paroi du compartiment 1.

Il est possible, ayant le dispositif en mains, de désolidariser, en la dévissant, la capsule 3 du compartiment 2. La capsule 3 entraîne alors avec elle le compartiment 1. Il est alors aisé d'accéder aux milieux solides.

Sur la capsule 4 peut être fixée, au centre 4a de sa face extérieure, une petite tige 15. En soulevant cette tige une fois fixée, on enlève la capsule 4. Ayant retourné l'ensemble formé par la capsule 4 et la tige 15, on peut le diriger vers la face extérieure du bouchon — piston 9 obstruant le compartiment 1.

L'embout de la tige 15 comporte un jonc circulaire moulé en contre-dépouille. Ce jonc permet de fixer la tige 15 sur le bouchon — piston 9 par emboîtement dans un cavité que comporte celui-ci au centre de sa face extérieure.

Le bouchon-piston 9 est réalisé en caoutchouc. Il est perforable.

La mise en oeuvre du dispositif présente les particularités suivantes :

- 5 - l'inoculation du milieu liquide nécessite que soit au préalable ôtée la capsule 4 à l'aise de la tige 15 (cf. figure 23 B),
- 10 - la mise en communication est réalisée en exerçant une pression sur le bouchon-piston 9 par l'intermédiaire de la capsule 4 et de sa tige (cf. figure 23D) ; sous l'effet de la pression exercée sur le milieu liquide, la pièce 16 est repoussée vers le bas du dispositif et l'ouverture 8e que comporte le fond du compartiment 1 se trouve dégagée ; simultanément le milieu liquide commence à pénétrer dans le compartiment 2 et parvient à occuper tout le volume libre du compartiment 2,
- 15 - le retour du milieu liquide dans le compartiment 1 est obtenu en ramenant le bouchon-piston 9 à sa position initiale par l'intermédiaire de la capsule 4 munie de sa tige (cf. figure 23 E),
- 20 - pour l'incubation du dispositif ainsi ensemencé dans ses deux compartiments, on peut le laisser en position verticale sans le retourner, après avoir repoussé vers le haut la pièce 16 de telle manière qu'elle reprenne sa position initiale et puisse assurer de cette façon une parfaite étanchéité entre les deux compartiments.
- 25

Dans ce qui suit un exemple non limitatif de l'utilisation d'un dispositif selon l'invention est présenté.

#### 1 EXEMPLE

30 Le modèle 4 de dispositif décrit ci-dessus a été mis en oeuvre pour la détection de la présence de bactéries aérobies ou aérobies-anaérobies facultatives à partir d'échantillons de sang prélevés sur trois malades.

### 1.1 MATERIEL MIS EN OEUVRE

Pour chacun des trois essais réalisés, un dispositif est utilisé. Chaque dispositif contient le milieu liquide et les milieux solides présentés ci-dessous.

#### 5 Milieu liquide

On a utilisé un bouillon cerveau-coeur commercialisé par la Société Diagnostics Pasteur. Ce bouillon contient deux facteurs de croissance, le facteur V (nicotinamide dinucléotide) et le facteur X (hémine) nécessaires à la croissance des bactéries des genres Haemophilus et Neisseria, et en tant qu'anticoagulant du polyanéthol-sulfonate de sodium. Chaque dispositif a été rempli de 100 ml de milieu liquide.

#### Milieux solides

On a utilisé cinq milieux solides portés ensemble par le support de milieux solides du compartiment 2.

Ces milieux ont été répartis sur les deux faces du support. Il s'agit :

- d'une gélose cerveau-coeur enrichie en facteurs X et V (gélose 1)
- d'une gélose cerveau-coeur enrichie uniquement en facteur V (gélose 2)
- d'une gélose cerveau-coeur non enrichie en facteurs X et V (gélose 3)
- d'une gélose au sang, du type de celle commercialisée par la Société Diagnostics Pasteur, enrichie en facteurs X et V (gélose 4),
- et d'une gélose de Mueller-Hinton, du type de celle commercialisée par la Société Diagnostics Pasteur, contenant de la pyridine-2 azo-p-diméthyl-aniline-céphalosporine et enrichie en facteurs X et V (gélose 5).

Le choix de ces milieux a été fait en tenant compte des critères suivants :

- le bouillon cerveau-coeur enrichi en facteurs V et X est adapté, en présence d'une atmosphère dont la composition gazeuse est proche de celle de l'air et enrichie de 10% de

CO<sub>2</sub>, à la croissance des bactéries exigeantes aérobies et aéro-anaérobies facultatives,

- les géloses cerveau-coeur utilisées permettent également la croissance des germes exigeants mais de manière sélective vis-à-vis des espèces du genre Haemophilus :
  - 5 \* H. influenzae ne se développe que sur les géloses 1, 4 et 5,
  - \* H. haemolyticus ne se développe que sur les géloses 1, 4 et 5,
  - 10 \* H. parainfluenzae ne se développe que sur les géloses 1, 2, 4 et 5
  - \* H. parahaemolyticus ne se développe que sur les géloses 1, 2, 4 et 5,
  - \* aucune de ces quatre espèces ne peut par contre se développer sur la gélose 3.
- La gélose au sang enrichie en facteurs V et X permet la croissance des germes exigeants et en particulier celle des quatre espèces d'Haemophilus citées ci-dessus tout en permettant de faire une distinction entre elles : seules les espèces H. haemolyticus et H. parahaemolyticus peuvent en effet donner autour de leurs colonies une zone d'hémolyse.
- La gélose 4 est également intéressante pour la mise en évidence de certains streptocoques et de certains staphylocoques qui peuvent développer autour de leurs colonies une zone d'hémolyse.
- La gélose de Mueller-Hinton permet de détecter très précoce-  
ment la résistance des bactéries des genres Haemophilus et Neisseria aux bêta-lactamines lorsqu'elles ont l'aptitude à produire une bêta-lactamase endogène ; il y a un grand intérêt diagnostic à connaître cette éventuelle résistance dans la mesure où une bêta-lactamase est souvent prescrite pour le traitement des infections à Haemophilus ou à Neisseria. La production de bêta-lactamase sur le milieu est signalée par le virage au jaune autour des colonies du milieu initialement gris-violet.

## 2 MODE OPERATOIRE (CF. FIGURE 14)

2.1. INOCULATION DU SANG DU MALADE DANS LE MILIEU LIQUIDE DU COMPARTIMENT 1,

- le prélèvement est effectué à partir de la veine du malade au moyen d'un nécessaire pour prélèvement de sang. Le nécessaire est constitué d'une tubulure en plastique transparent munie à chacune de ses extrémités d'une aiguille et portant un dispositif à molette qui selon sa position empêche ou libère le passage du sang. La molette étant en position fermée, l'aiguille destinée au prélèvement est enfoncée dans la veine.
- la capsule 4 ayant été ôtée et le bouchon 9 ayant été désinfecté à l'alcool, on enfonce dans le bouchon 9 l'autre aiguille du système de prélèvement de manière à traverser le bouchon de part en part,
- la molette est ensuite tournée de façon à laisser le sang s'écouler dans le compartiment 1 ; le système ainsi établi constitue un système fermé,
- on laisse ainsi s'écouler 10 ml de sang puis l'on arrête le passage du sang en bloquant à nouveau la molette.
- l'aiguille ayant servi à l'inoculation du compartiment 1 est d'abord retirée puis on enlève celle qui avait été introduite dans la veine du malade,
- la capsule 4 est remise en place sur le compartiment 1,
- le dispositif est agité doucement à la main pour permettre un mélange correct du sang et du milieu.

2.2. MISE EN COMMUNICATION DES DEUX COMPARTIMENTS

On arrache la bague d'arrêt 5 et l'on visse à fond la capsule 3 de telle manière que l'extrémité 6a du support de milieux solides déchire la cloison 8c.

2.3. MISE EN CONTACT DU MILIEU LIQUIDE ENSEMBLE AVEC LES MILIEUX SOLIDES.

On retourne le dispositif plusieurs fois doucement de manière que le milieu liquide vienne inonder les milieux solides.

2.4. INCUBATION

L'appareil est placé dans une étuve à 37°C en le laissant reposer sur le fond du compartiment 1.

### 2.5. OBSERVATION EN COURS D'INCUBATION

Les milieux sont observés au bout de dix-huit heures d'incubation. En l'absence d'un trouble ou de colonies, l'incubation est poursuivie. D'autres observations sont faites toutes les vingt-quatre heures la première semaine puis une fois par semaine pendant 5 trois semaines jusqu'à ce que du moins la présence d'un trouble ou de colonies soit constatée.

### 2.6. POURSUITE DE L'ANALYSE

Dès que l'apparition de colonies est constatée, on extrait 10 du dispositif le support de milieux solides en dévissant la capsule 3. On procède à un premier examen macroscopique des colonies et l'on vérifie la présence d'une auréole jaune autour des colonies signa- 15 lant la résistance des bactéries aux bêta-lactamines. On procède ensuite aux tests de laboratoire classiques permettant une identi- fication précise des bactéries mises en évidence ; on complète ces analyses par la réalisation d'un antibiogramme.

## 3 RESULTATS

### 3.1. ESSAI N° 1

Le malade était un enfant présentant les signes cliniques 20 d'une méningite.

Après 24 heures d'incubation, on a constaté un trouble léger dans le milieu liquide et la présence de colonies sur les géloses 1, 4 et 5.

Sur la gélose 1 les colonies observées étaient toutes 25 d'aspect identique, petites, grisâtres, relativement muqueuses et translucides.

Sur la gélose 4, aucune colonie n'était entourée d'une zone d'hémolyse.

Sur la gélose 5, les colonies étaient entourées d'une 30 zone jaune.

Cet examen macroscopique complété par un examen microscopique et une batterie de tests rapides a permis de présumer que l'échantillon testé ne contenait que des bactéries appartenant à l'espèce Haemophilus influenzae et productrices de bêta-lactamase. 35 Ce dernier résultat indiquait que le malade ne devait pas être traité à l'aide d'une bêta-lactamine.

Les tests d'identification biochimique réalisés à partir des colonies ont effectivement permis, vingt-quatre heures plus tard, de conclure que l'on était bien en présence d'une souche d'Haemophilus influenzae présentant un antigène capsulaire de type

5 B. Dans le même délai, on disposait des résultats de l'antibiogramme permettant le choix d'un antibiotique.

### 3.2 ESSAI No. 2

Le malade était un adulte présentant les signes cliniques d'une endocardite.

10 Après 24 heures d'incubation, on a constaté la présence d'un trouble dans le milieu liquide et de colonies de petite taille sur les géloses 1, 2, 4 et 5.

Aucune colonie ne s'était développée sur la gélose 3, il apparaissait donc que le germe détecté était exigeant en facteur V.

15 On notait également que les colonies portées par la gélose 4 étaient entourées d'une zone d'hémolyse.

Aucune variation de couleur n'était observée sur la gélose 5.

Les colonies observées étaient toutes d'aspect identique, petites, grisâtres, muqueuses et translucides.

20 Cet examen macroscopique complété par un examen microscopique et la réalisation d'une batterie de tests rapides a permis de présumer que l'échantillon testé ne contenait que des bactéries appartenant à l'espèce Haemophilus parahaemolyticus et ne produisant pas de bêta-lactamase. Ce dernier résultat a permis d'entreprendre 25 un traitement à l'ampicilline.

Les tests d'identification biochimique réalisés à partir des colonies isolées ont permis de confirmer l'identification.

### 3.3. ESSAI No. 3

Le malade était un adulte présentant les signes cliniques 30 d'une gonococcie disséminée.

Dès la première observation dix-huit heures après l'ensemencement, on a constaté la présence d'un trouble dans le milieu liquide et de colonies de petite taille sur les géloses 1, 4 et 5.

35 Sur la gélose 4, aucune colonie n'était entourée d'une zone d'hémolyse. Par contre sur la gélose 5, le milieu avait viré

au jaune autour des colonies. Cette dernière observation indiquait que les bactéries mises en évidence étaient productrices de bêta-lactamase.

Une batterie de tests réalisés immédiatement à partir des 5 colonies de la gélose après avoir sorti le support de milieux solides hors du dispositif, et comprenant notamment une coloration de Gram et une recherche de l'oxydase, a permis de conclure que l'espèce bactérienne mise en évidence appartenait d'une manière certaine au genre Neisseria.

10 La vérification des caractères biochimiques a confirmé vingt-quatre heures plus tard que le germe était une souche productrice de bêta-lactamase appartenant à l'espèce Neisseria gonorrhoeae. Dans le même délai on disposait des résultats de l'antibiogramme permettant le choix d'un antibiotique.

REVENDICATIONS

1. Dispositif de laboratoire pour une analyse, nécessitant la mise en contact transitoire d'une phase solide contenant ou portant au moins un premier réactif avec une phase liquide contenant au moins un second réactif, constitué de deux compartiments ayant chacun au moins une ouverture sur l'extérieur munie d'un moyen de fermeture, caractérisé en ce qu'il comporte un moyen pour la mise en communication desdits compartiments permettant en système fermé le passage dudit liquide contenu dans l'un des compartiments vers l'autre compartiment et son retour dans son compartiment d'origine.
2. Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce que les deux compartiments ont une cloison commune.
3. Dispositif selon la revendication 2, caractérisé en ce que le moyen pour la mise en communication est une pièce mobile dont le déplacement libère une ouverture préexistante dans ladite cloison commune.
4. Dispositif selon la revendication 3, caractérisé en ce que la pièce mobile est un volet obturateur.
5. Dispositif selon la revendication 3, caractérisé en ce que la pièce mobile est une pièce positionnée dans ladite ouverture préexistante.
6. Dispositif selon la revendication 3, caractérisé en ce que le moyen pour la mise en communication est constitué par une pièce ayant une extrémité acérée et dont le déplacement crée une solution de continuité dans ladite cloison commune.
7. Dispositif selon la revendication 5, caractérisé en ce que les deux compartiments sont coaxiaux et s'emboîtent l'un dans l'autre.
8. Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce que les deux compartiments n'ont pas de cloison commune et sont rendus solidaires l'un de l'autre au moyen d'au moins un plan d'attache.

9. Dispositif selon la revendication 8, caractérisé en ce que le moyen pour la mise en communication est une pièce obstruant un canal reliant les deux compartiments.

10. Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce que les deux compartiments sont rendus solidaires l'un de l'autre au moyen d'une bague d'assemblage établissant entre eux un contact étroit par l'intermédiaire d'une cloison de l'un des compartiments et d'une cloison de l'autre et permettant d'imprimer un mouvement de rotation à l'un des compartiments alors que l'autre est maintenu immobilisé.

11. Dispositif selon la revendication 10, caractérisé en ce que les cloisons par lesquelles les deux compartiments entrent en contact comportent chacune au moins une ouverture, lesdites ouvertures pouvant se superposer par un mouvement de rotation de l'un des compartiments.

12. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisé en ce qu'il comporte des moyens pour la détection de la présence de micro-organismes par culture biphasique.

20

25

30

35

1/11

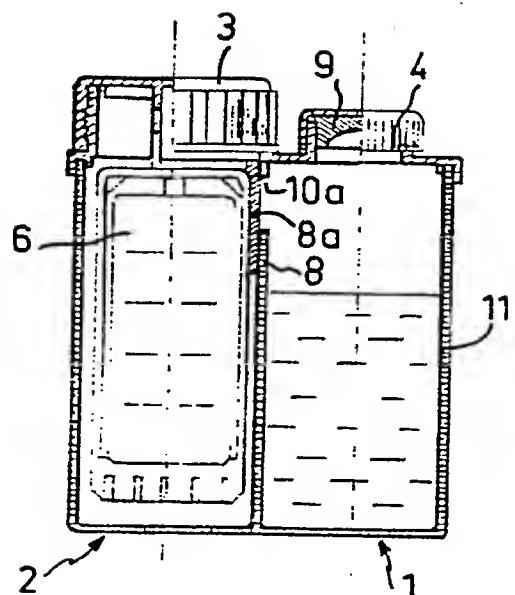


FIG. 1

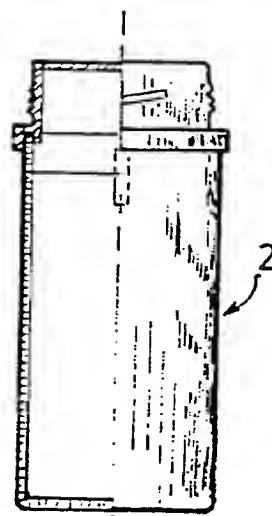


FIG. 2

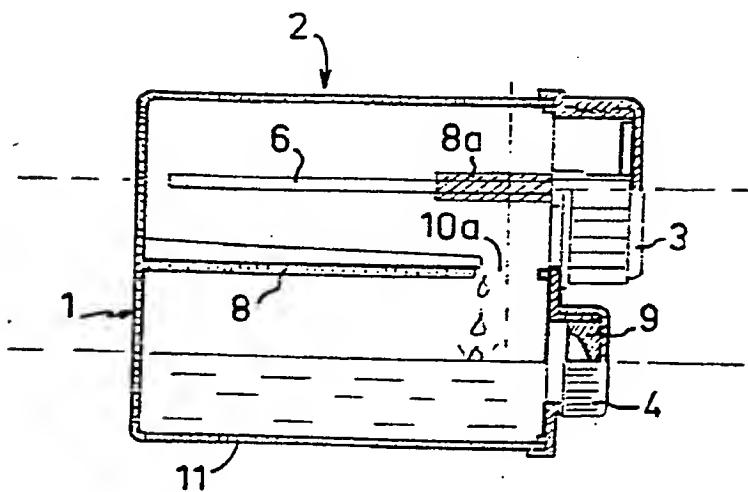


FIG. 4

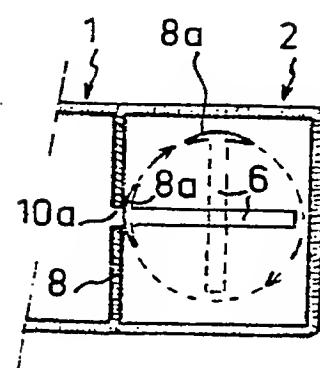
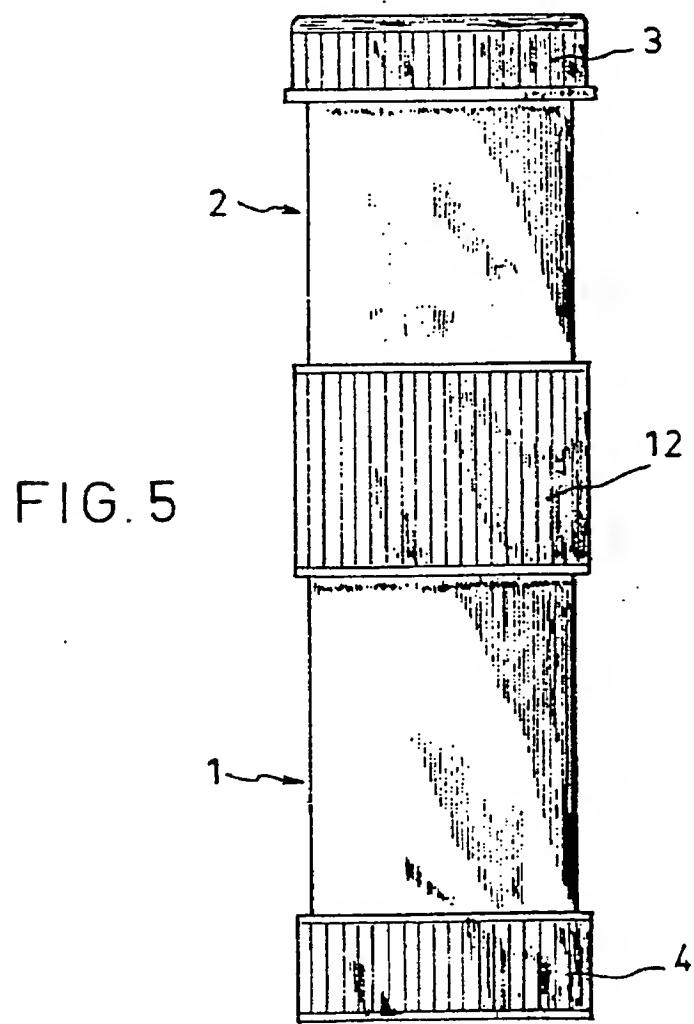
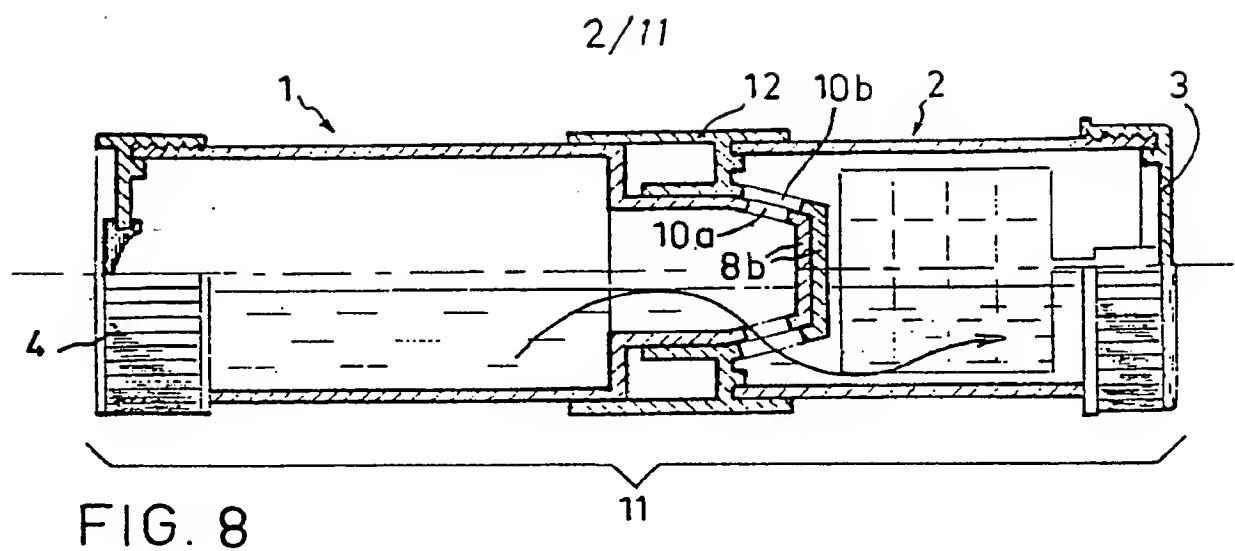


FIG. 3



3/11

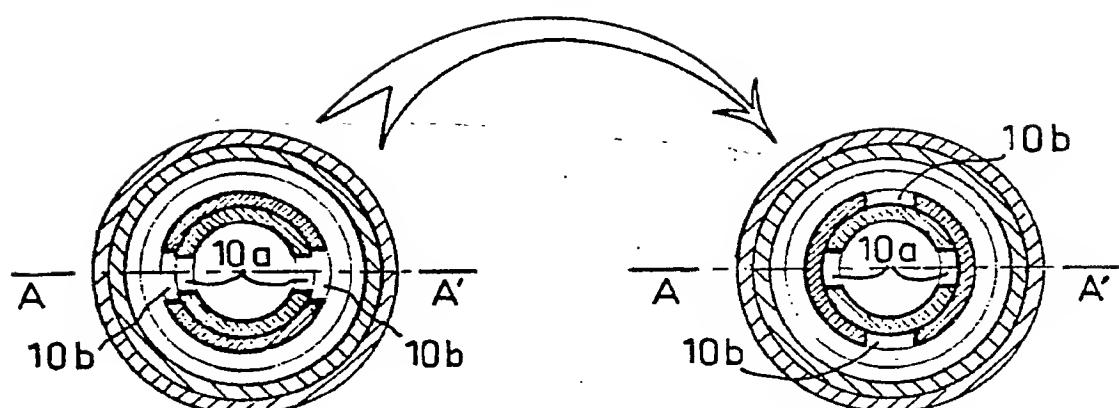


FIG. 7A

FIG. 7B

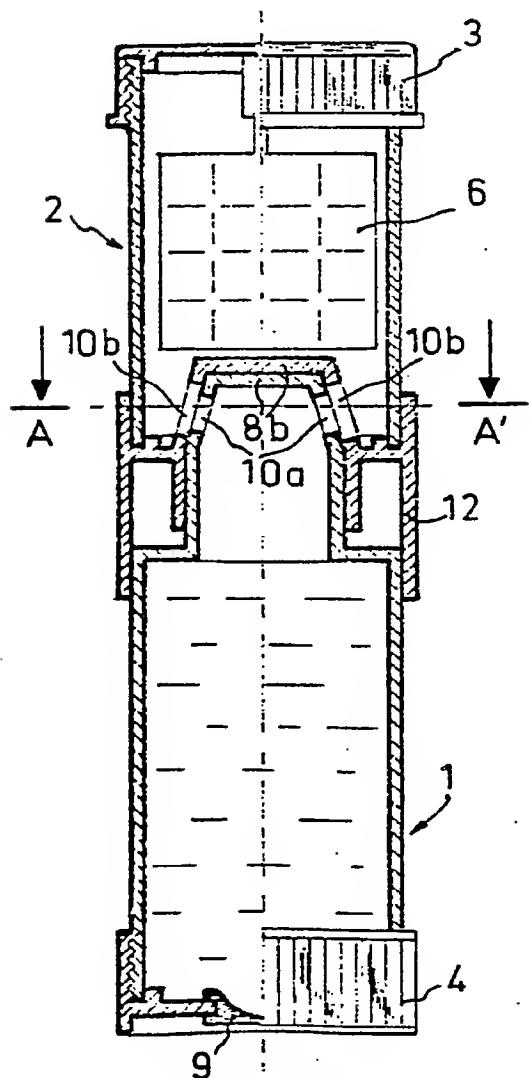


FIG. 6A

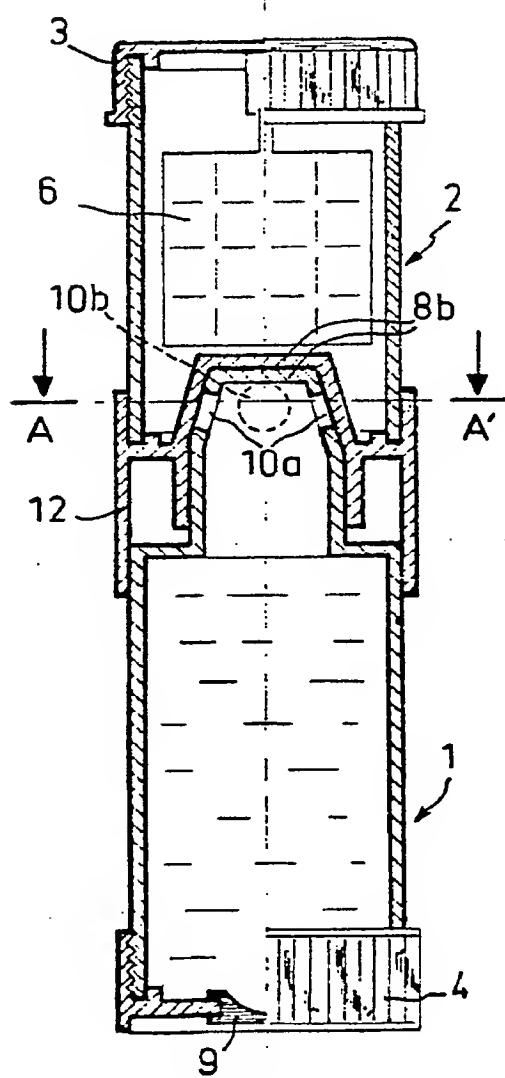


FIG. 6B

4 / 11

FIG.12

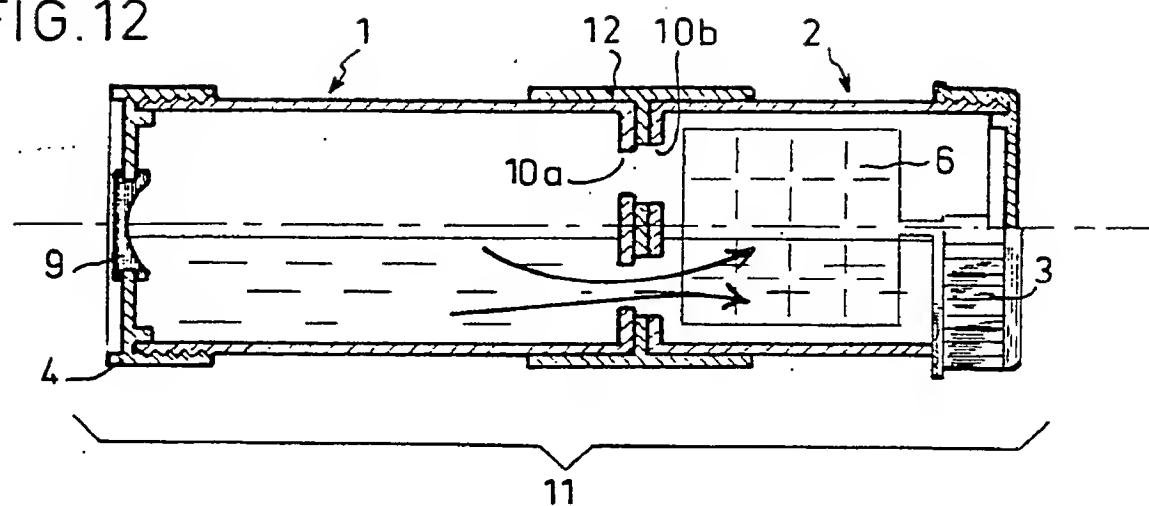
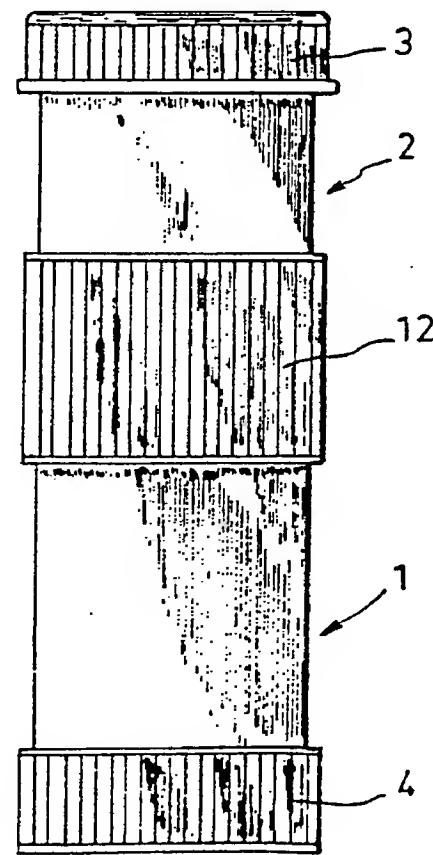


FIG.9



5/11

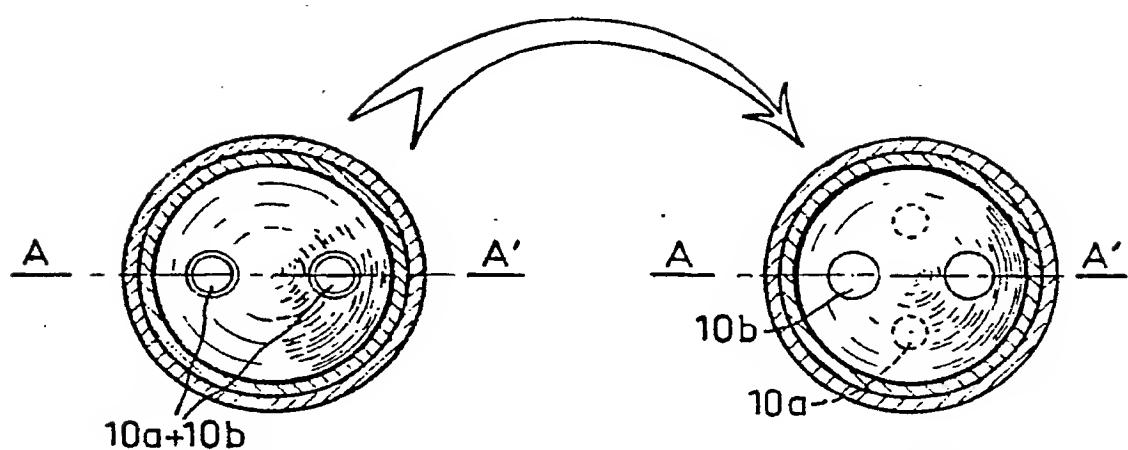


FIG. 11A

FIG. 11B

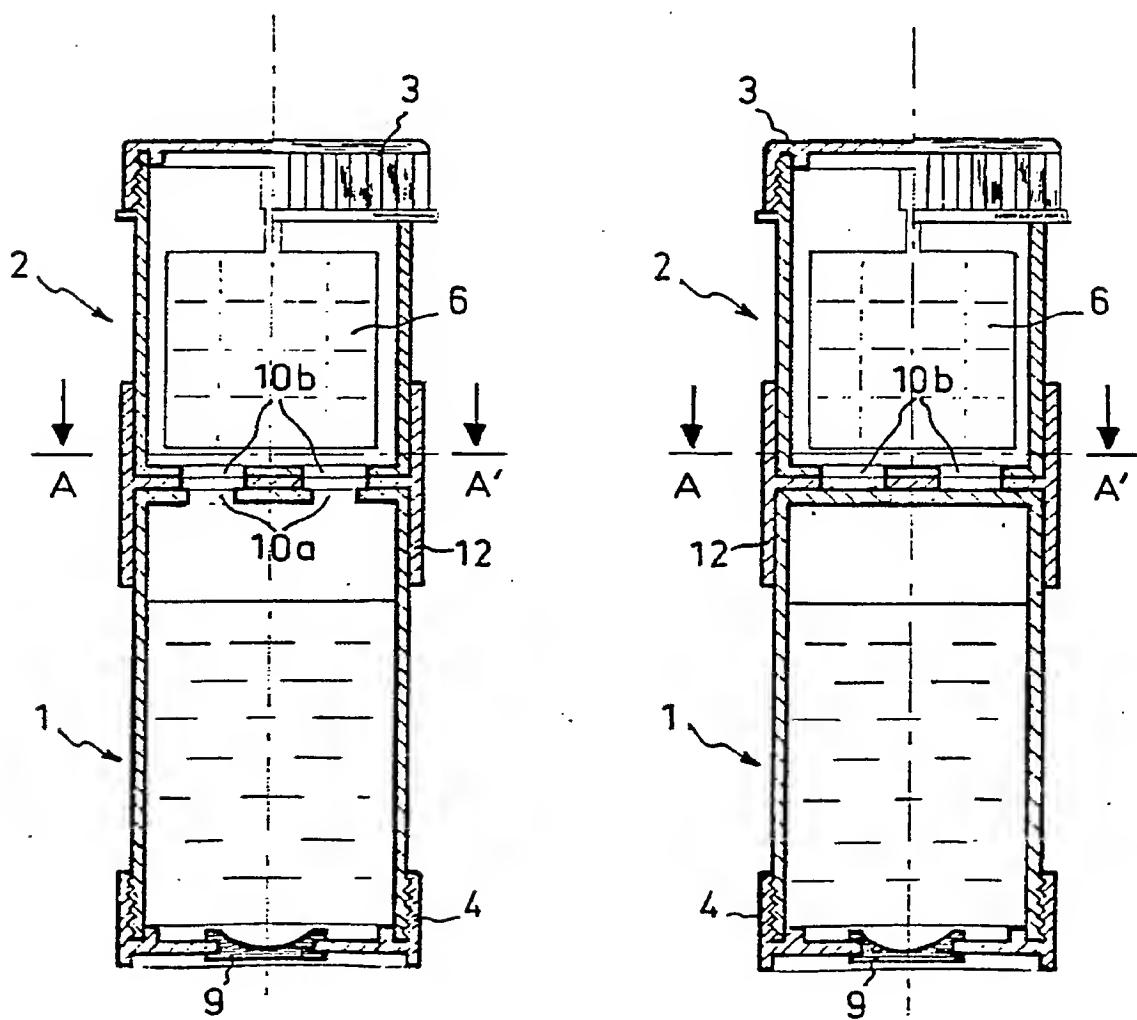


FIG. 10A

FIG. 10B

6/11

FIG. 13

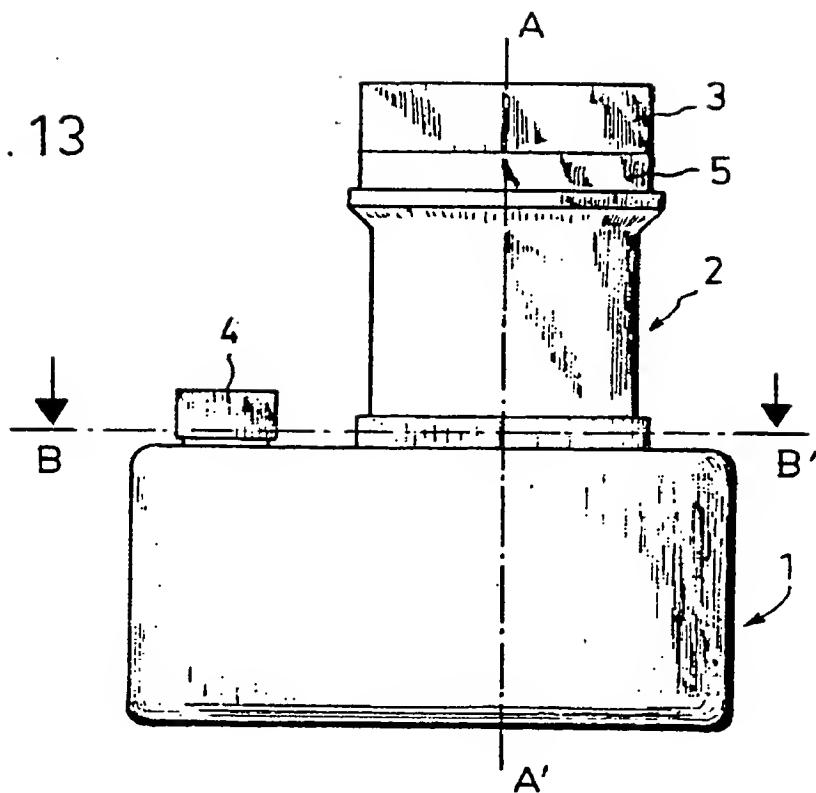
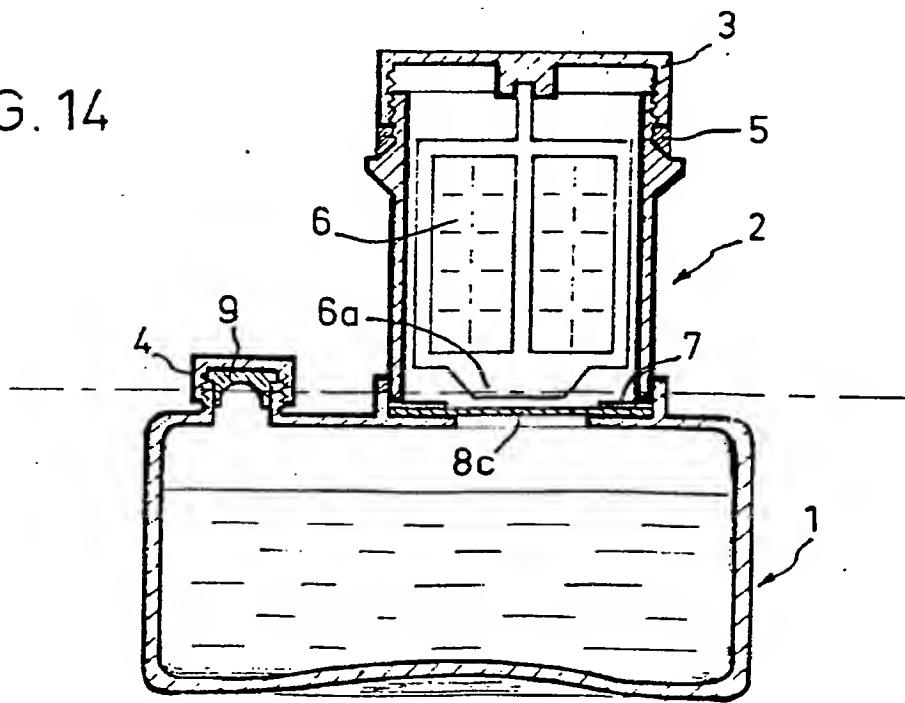


FIG. 14



7/11

FIG. 15

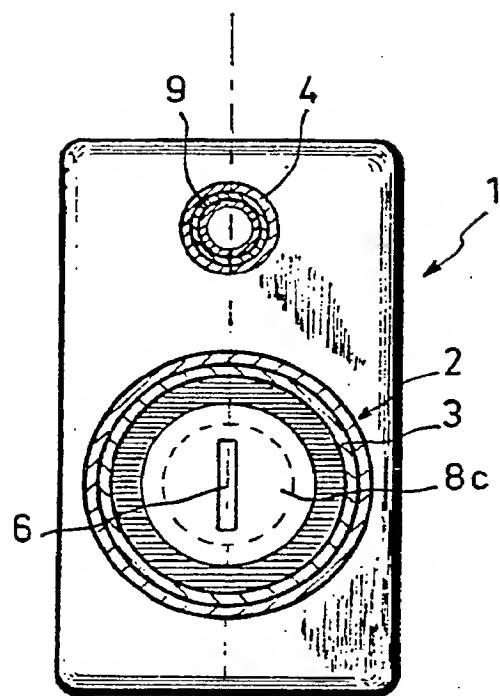
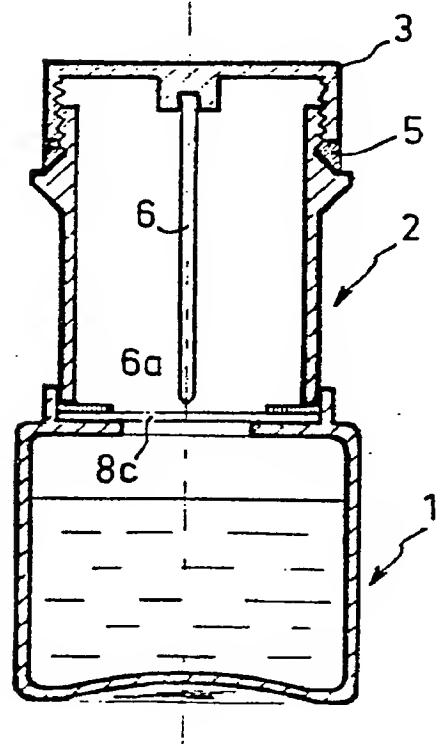


FIG. 16



8/11

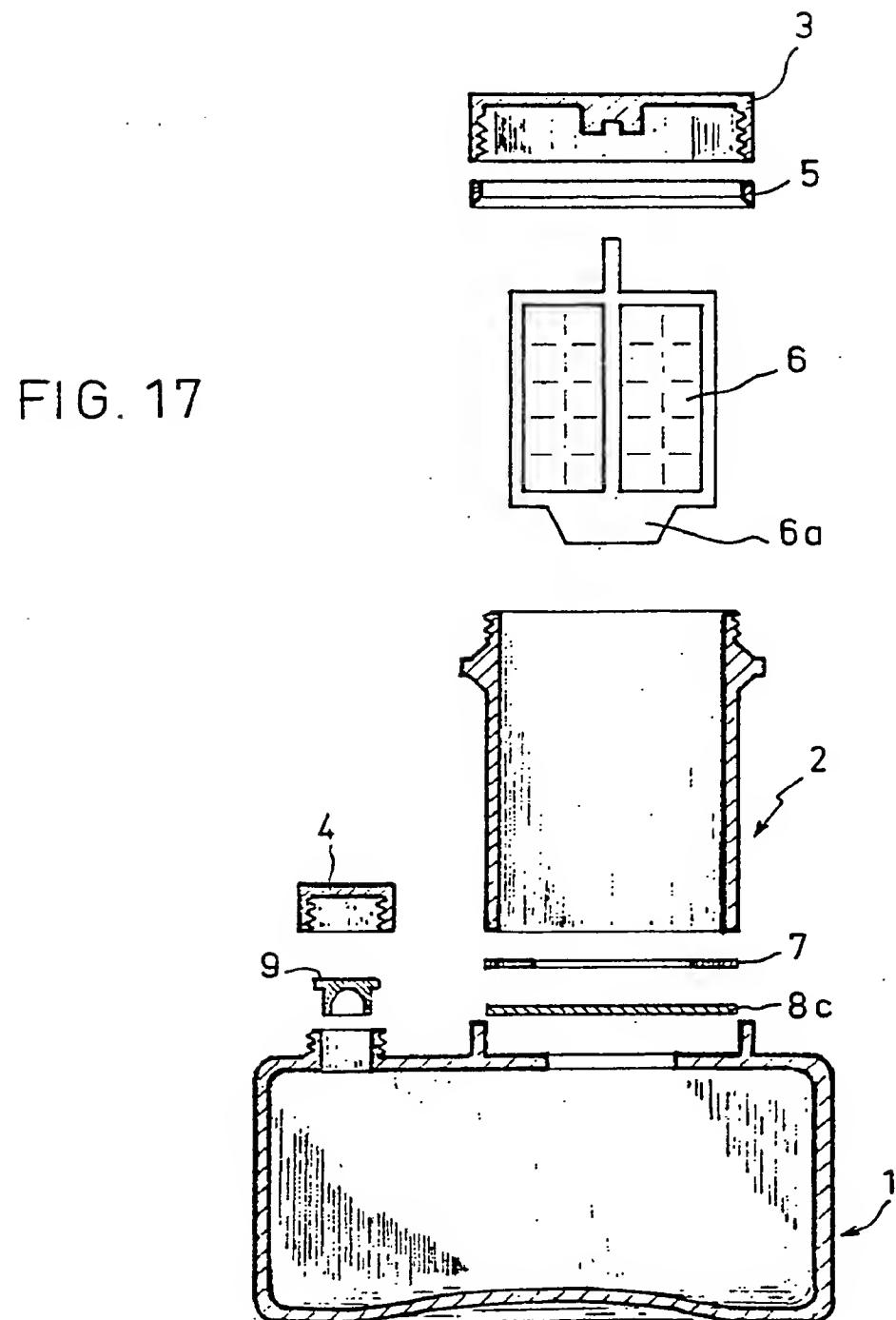


FIG.18

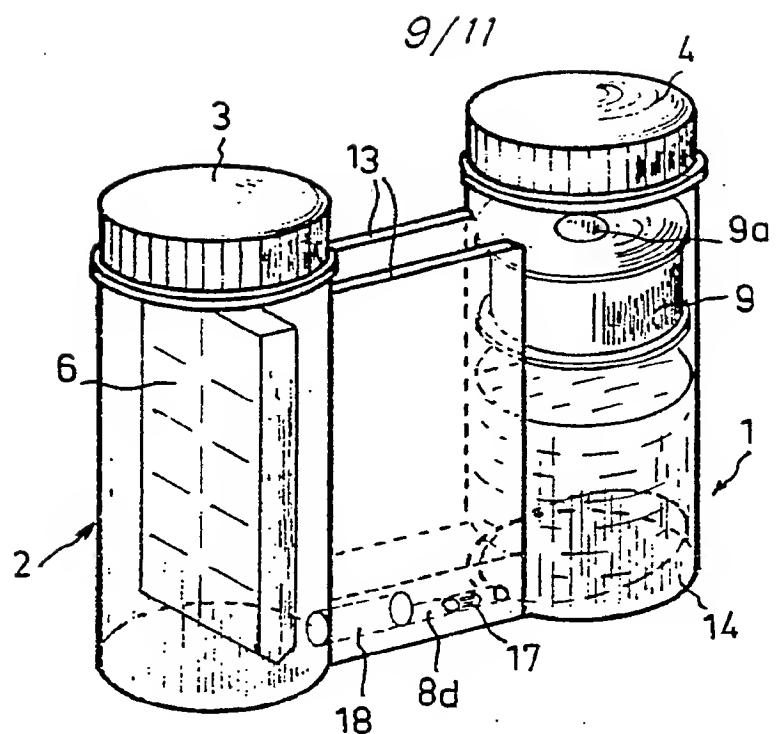


FIG. 20

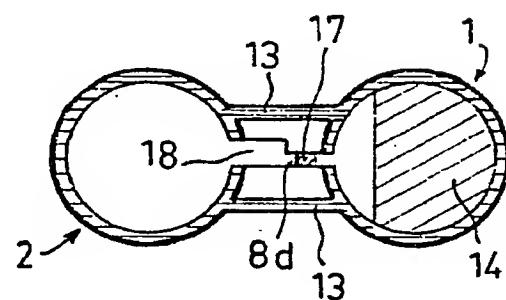


FIG. 19

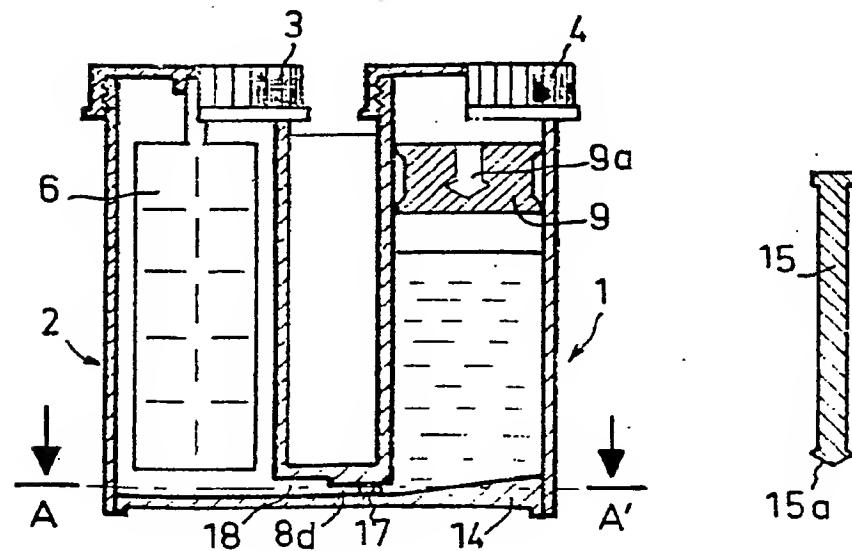


FIG. 22

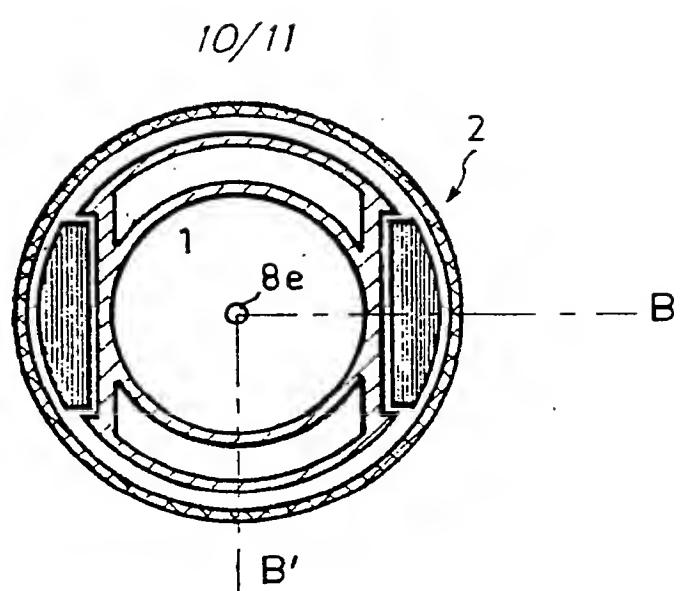


FIG. 21

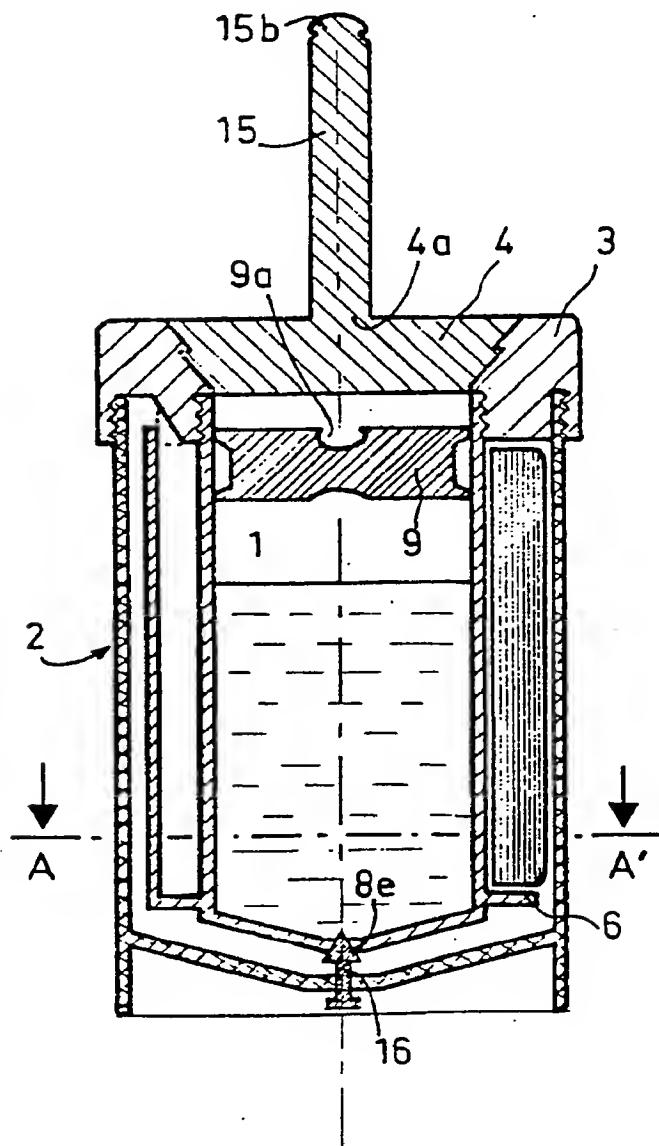
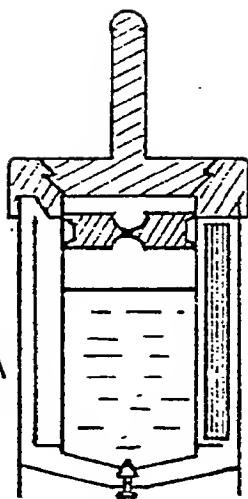


FIG.23A



11/11

FIG.23B

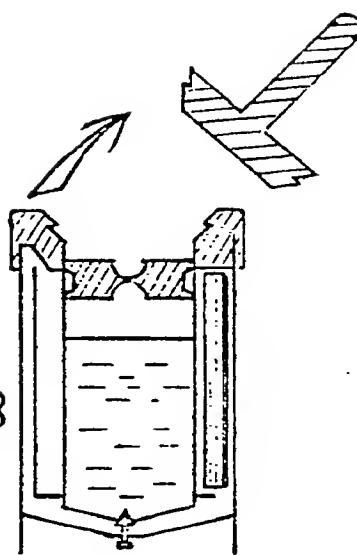


FIG.23C

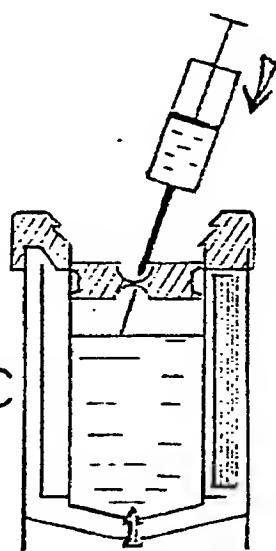


FIG.23D

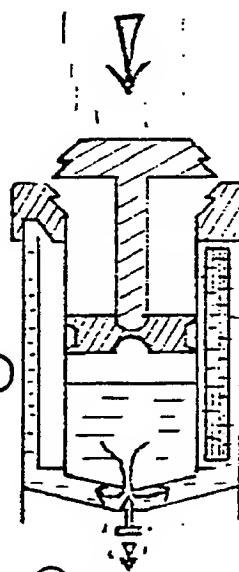


FIG.23E

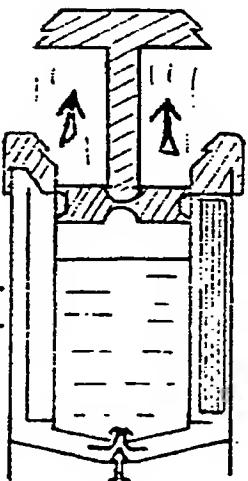


FIG.23F

